

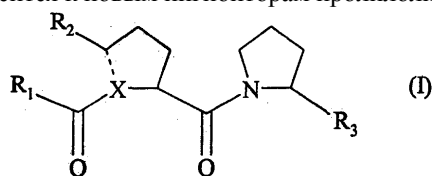
Настоящее изобретение относится к новым ингибиторам пролилолигопептидазы, их фармацевтически приемлемым солям и сложным эфирам, а также к содержащим их фармацевтическим композициям и их применению в качестве лекарства.

Пролилолигопептидаза (ЕС, 3.4.21.26) (POP), известная также как пролилэндопептидаза, представляет собой единственную серинпротеазу, которая катализирует гидролиз пептидов по С-терминальному участку L-пролиновых фрагментов. Она широко распространена у млекопитающих и может быть выделена из различных органов, включая мозг.

Фермент играет важную роль в разрыве пролинсодержащих нейропептидов, отвечающих за способность к обучению и память (Wilk, S., Life Sci., 1983, 33, 2149-2157; O'Leary, R.M., O'Connor, B., J. Neurochem., 1995, 65, 953-963). Соединения, способные ингибировать пролилолигопептидазу, эффективны для профилактики экспериментальной амнезии у крыс, вызванной скополамином, что предполагает участие ингибиторов пролилолигопептидазы в смягчении дисфункций памяти (Yoshimoto, T., Kado, K., Matsubara, F., Koryama, N., Kaneto, H., Tsuru, D., J. Pharmacobio-Dyn., 1987, 10, 730-735).

В последние годы было установлено, что протеин β -амилоид оказывает нейротоксическое действие в экспериментах *in vitro* и *in vivo* и что он играет важную роль в патогенезе болезни Альцгеймера. С точки зрения гипотезы, согласно которой вещество P может подавлять нейротоксическое действие β -амилоидного белка (Kowall, N.W., Beal, M.F., Busciglio, J., Duffy, L.K., Yankner, B.A., Proc. Natl. Sci. USA, 1991, 88, 7247-7251), можно предположить, что ингибиторы пролилолигопептидазы, которые также ингибируют метаболизм вещества P, окажутся эффективными лекарствами для лечения болезни Альцгеймера.

Настоящее изобретение относится к новым ингибиторам пролилолигопептидазы общей формулы (I)



в которой X представляет собой N или C;

пунктирная линия представляет собой ординарную или двойную связь;

R₁ представляет собой

прямую или разветвленную, незамещенную или замещенную алкильную цепь, содержащую 1-10 атомов углерода,

прямую или разветвленную, незамещенную или замещенную алкенильную цепь, содержащую 2-10 атомов углерода,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное, незамещенное или замещенное карбоциклическое кольцо,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное, незамещенное или замещенное гетероциклическое кольцо,

замещенную или незамещенную алкильную или алкенильную группу, как определено выше, включающую в качестве группового члена замещенное или незамещенное карбоциклическое кольцо или гетероциклическое кольцо, как определено выше,

гидрокси, низший алкокси, арилокси, арил(низший)алкокси, amino, amino(низший)алкил, низший алкиламино, ариламино- или арил(низший)алкиламиногруппы, причем указанные алкил, арил или аминоподгруппы являются незамещенными или замещенными;

R₂ представляет собой

H,

прямую или разветвленную, незамещенную или замещенную алкильную цепь, содержащую 1-10 атомов углерода,

прямую или разветвленную, незамещенную или замещенную алкенильную цепь, содержащую 2-10 атомов углерода,

прямую или разветвленную, незамещенную или замещенную алкинильную цепь, содержащую 2-10 атомов углерода;

R₃ представляет собой

H, циано, гидрокси, оксо, галоген, низший алкил, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, amino, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл, причем указанные алкильные подгруппы являются незамещенными или замещенными,

или R₃ представляет собой COOR⁴, COR⁴, CR⁴(OR⁵)₂ или COCH₂OR⁶, причем R⁴ представляет собой H, низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероцикл, арил, amino, низший алкиламино, ариламино- или низший алкиламино, причем указанный низший алкил является незамещенным или замещенным, R⁵ представляет собой низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, арил или аралкил и R⁶ представляет собой низший ацил или галоген;

при условии, что:

а) когда X представляет собой N, то пунктирная линия представляет собой ординарную связь и R₂ не является H;

б) когда X представляет собой C, то пунктирная линия представляет собой двойную связь и R₂ является H;

в) соединение не является 5-этоксикарбонил-N-бензилоксикарбонил-2-[(2'-(S)-бензилкарбонил)-1'-пирролидинилкарбонил]пирролидином или 5-(1-пирролидинилкарбонил)-1-фенилметилловым эфиром 1,2-пирролидиндикарбоновой кислоты.

Настоящее изобретение относится также к фармацевтически приемлемым солям и сложным эфирам соединений формулы (I). Фармацевтически приемлемые соли, например соли органических и неорганических кислот, хорошо известны в области фармакологии. Неограничивающие примеры таких солей включают хлориды, бромиды, сульфаты, нитраты, фосфаты, сульфонаты, формиаты, тартраты, малеаты, цитраты, бензоаты, салицилаты и аскорбаты.

Фармацевтически приемлемые сложные эфиры могут быть получены известными способами с применением фармацевтически приемлемых кислот, традиционно используемых в фармакологии и сохраняющих фармакологические свойства в свободной форме. Неограничивающие примеры таких сложных эфиров включают эфиры алифатических или ароматических спиртов, например сложные эфиры метилового, этилового, пропилового, изопропилового, бутилового, изобутилового, втор-бутилового и трет-бутилового спиртов.

Другим объектом изобретения является фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере один фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель и/или эксципиент, а также терапевтически эффективное количество соединения формулы (I) в качестве активного агента. Еще одним объектом изобретения является применение соединений формулы (I) в качестве ингибиторов пролилолигопептидазы, например, при лечении нейродегенеративных заболеваний, например болезни Альцгеймера и старческого слабоумия, а также для улучшения способности к обучению и памяти. Более того, предлагается способ лечения болезни или улучшения состояния, когда показаны ингибиторы пролилолигопептидазы, например способ лечения нейродегенеративных заболеваний и/или улучшения способности к обучению и памяти. В таком способе пациенту, нуждающемуся в таком лечении, вводят терапевтически эффективное количество соединения данного изобретения. Предлагается также применение соединений настоящего изобретения для производства лекарственного средства, которое может быть использовано при упомянутых показаниях.

Соединения формулы (I), а также их фармацевтически приемлемые соли и сложные эфиры, указанные ниже, называются соединениями изобретения, если не указано иное.

Изобретение включает в свой объем все возможные стереоизомеры соединений формулы (I), включая геометрические изомеры, например Z- и E-изомеры (цис- и транс-изомеры), и оптические изомеры, например диастереомеры и энантиомеры. Кроме того, изобретение включает в свой объем как отдельные изомеры, так и любые их смеси, например рацемические смеси. Отдельные изомеры могут быть получены с использованием соответствующих изомерных форм исходных веществ, или они могут быть выделены после получения конечного соединения с помощью традиционных методов разделения. Для выделения оптических изомеров, например энантиомеров, из их смеси можно использовать традиционные способы разделения, например фракционную кристаллизацию.

В приведенной выше формуле (I) символы имеют следующие значения.

X представляет собой N или C.

Пунктирная линия представляет собой ординарную или двойную связь.

Прямая или разветвленная алкильная цепь в обозначении R₁ содержит от 1 до 10 атомов углерода. Такая группа может быть незамещенной или содержать от 1 до 3 заместителей, каждый из которых независимо представляет собой COOR⁴, COR⁴, CR⁴(OR⁵)₂, COCH₂OR⁶, циано, гидроксид, оксо, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, нитро, amino, низший алкил amino, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл, причем R⁴ представляет собой H, низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероцикл, арил или аралкил, R⁵ представляет собой низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, арил или аралкил и R⁶ представляет собой H, низший алкил, низший ацил или галоген.

Прямая или разветвленная алкенильная цепь в обозначении R₁ содержит от 2 до 10 атомов углерода. Такая группа может быть не замещена или содержать от 1 до 3 заместителей, как определено выше для алкильной группы.

Карбоциклическое кольцо в обозначении R₁, или введенное в качестве члена цепи в алкильную или алкенильную группу, представляет собой насыщенное или ненасыщенное 3-7-членное кольцо из одних атомов углерода в кольце. Такая группа может быть незамещенной или содержать от 1 до 3 заместителей, каждый из которых независимо является низшим алкилом или группой, как описано выше для алкильной группы.

Гетероциклическое кольцо в обозначении R₁, или введенное в качестве члена цепи в алкильную или алкенильную группу, представляет собой насыщенное или ненасыщенное 3-7-членное гетероциклическое кольцо, содержащее от 1 до 3 гетероатомов, выбранных из атомов азота, кислорода и/или серы.

Гетероциклическая группа R_1 может быть незамещенной или содержать от 1 до 3 заместителей, каждый из которых независимо является низшим алкилом или группой, как описано выше для алкильной группы.

Когда R_1 представляет собой гидроксильную, низший алкокси, арилокси, арил(низший)алкокси, аминоксильную, аминоксильную(низший)алкил, низший алкиламино, ариламино или арил(низший)алкиламино, указанные алкил, арил или аминоксильные группы могут быть незамещенными или содержать 1-3 заместителя, каждый из которых независимо является низшим алкилом или группой, как описано выше для алкильной группы.

Прямая или разветвленная алкильная цепь в обозначении R_2 содержит 1-10 атомов углерода. Такая группа может быть незамещенной или содержать 1-3 заместителя, каждый из которых независимо может представлять гидроксильную, оксо, низший алкокси, аминоксильную, низший алкиламино, галоген, карбоксильную или низший ацил.

Прямая или разветвленная алкенильная цепь в обозначении R_2 содержит от 2 до 10 атомов углерода. Такая группа может быть незамещенной или замещенной от 1 до 3 заместителями, описанными выше для алкильной группы в обозначении R_2 .

Прямая или разветвленная алкильная цепь в обозначении R_2 содержит от 2 до 10 атомов углерода. Такая группа может быть не замещена или замещена от 1 до 3 заместителями, описанными выше для алкильной группы R_2 .

Когда R_3 представляет собой Н, циано, гидроксильную, оксо, галоген, низший алкил, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, аминоксильную, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл, указанные алкильные подгруппы являются незамещенными или содержат 1-3 заместителя, как определено выше для алкильной группы в обозначении R_1 .

Когда R_3 представляет собой COOR^4 , COR^4 , $\text{CR}^4(\text{OR}^5)_2$ или COCH_2OR^6 , R^4 представляет собой Н, низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероцикл, арил, аминоксильную, ариламино или низший алкиламино, причем указанный низший алкил является незамещенным или содержит 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой циано, гидроксильную, оксо, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, аминоксильную, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл, R^5 представляет собой низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, арил или аралкил и R^6 представляет собой низший ацил или галоген.

В приведенной выше формуле (I) символы имеют значения, как описано, при условии, что:

а) когда X представляет собой N, то пунктирная линия представляет собой ординарную связь и R_2 не является Н;

б) когда X представляет собой C, то пунктирная линия представляет собой двойную связь и R_2 является Н;

в) соединение не является 5-этоксикарбонил-N-бензилоксикарбонил-2-[(2'-(S)-бензилкарбонил)-1'-пирролидинилкарбонил]пирролидином или 5-(1-пирролидинилкарбонил)-1-фенилметилэфиром 1,2-пирролидиндикарбоновой кислоты.

Соединения изобретения можно при желании превратить в их фармацевтически приемлемые соли или эфиры с помощью способов, известных специалистам.

Возможную подгруппу соединений формулы (I) образует соединение, в котором

X представляет собой N;

пунктирная линия представляет собой ординарную связь;

R_1 представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-10 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой COOR^4 , COR^4 , $\text{CR}^4(\text{OR}^5)_2$ или COCH_2OR^6 , циано, гидроксильную, оксо, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, нитро, аминоксильную, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл; причем R^4 представляет собой Н, низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероцикл, арил или аралкил, R^5 представляет собой низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, арил или аралкил и R^6 представляет собой Н, низший алкил, низший ацил или галоген,

прямую или разветвленную алкенильную цепь, содержащую 2-10 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-3 заместителя, как описано выше для алкильной группы,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное гетероциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

замещенную или незамещенную алкильную или алкенильную группу, как определено выше, включенную в качестве группового члена в замещенное или незамещенное карбоциклическое кольцо или гетероциклическое кольцо, как определено выше,

гидроксильную, низший алкокси, арилокси, арил(низший)алкокси, аминоксильную, аминоксильную(низший)алкил, низший алкиламино, ариламино или арил(низший)алкиламино, причем указанные алкил, арил или аминоксильные

подгруппы являются незамещенными или содержащими 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы;

R_2 представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-10 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой гидроксильную, оксо-, низший алкокси, амино-, низший алкиламино-, галоген-, карбоксильную или низший ацил-,

прямую или разветвленную алкенильную цепь, содержащую 2-10 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-3 заместителя, как описано выше для алкильной группы в обозначении R_2 ,

или прямую или разветвленную алкинильную цепь, содержащую 2-10 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-3 заместителя, как описано выше для алкильной группы в обозначении R_2 ;

R_3 представляет собой

H, циано-, гидроксильную, оксо-, галоген-, низший алкил-, низший алкокси-, арил-, арилокси-, арил(низший)алкокси-, амино-, низший алкиламино-, ариламино-, арил(низший)алкиламино-, циклоалкил или гетероцикл, причем указанные алкильные подгруппы являются незамещенными или содержащими 1-3 заместителя, как описано выше для алкильной группы в обозначении R_1 ,

или R_3 представляет собой $COOR^4$, COR^4 , $CR^4(OR^5)_2$ или $COCH_2OR^6$, причем R^4 представляет собой H, низший алкил-, низший алкенил-, циклоалкил-, циклоалкенил-, гетероцикл-, арил-, амино-, низший алкиламино-, ариламино- или низший алкиламино-, причем указанный низший алкил является незамещенным или содержащим 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой циано-, гидроксильную, оксо-, галоген-, низший алкокси-, арил-, арилокси-, арил(низший)алкокси-, амино-, низший алкиламино-, ариламино-, арил(низший)алкиламино-, циклоалкил или гетероцикл, R^5 представляет собой низший алкил-, низший алкенил-, циклоалкил-, циклоалкенил-, арил- или аралкил- и R^6 представляет собой низший ацил- или галоген-, или их фармацевтически приемлемые соли или сложные эфиры; например в котором

R_1 представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-5 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой гидроксильную, галоген-, низший алкокси-, арил-, арилокси-, арил(низший)алкокси-, амино-, низший алкиламино-, ариламино-, арил(низший)алкиламино-, циклоалкил или гетероцикл,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное гетероциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

замещенную или незамещенную алкильную или алкенильную группу, как определено выше, включенную в качестве группового члена в замещенное или незамещенное карбоциклическое кольцо или гетероциклическое кольцо, как определено выше,

гидроксильную, низший алкокси-, арилокси-, арил(низший)алкокси-, амино-, амино(низший)алкил-, низший алкиламино-, ариламино- или арил(низшую)алкиламиногруппы, причем указанные алкил-, арил- или амино-подгруппы являются незамещенными или содержащими 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы;

R_2 представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-5 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой гидроксильную, оксо-, низший алкокси-, амино-, низший алкиламино-, галоген-, карбоксильную или низший ацил-,

R_3 представляет собой

H, циано- или COR^4 , причем R^4 представляет собой H, низший алкил-, циклоалкил-, циклоалкенил-, гетероцикл или арил-, причем указанный низший алкил является незамещенным или содержащим 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой гидроксильную, оксо-, галоген-, низший алкокси-, арил-, арилокси-, арил(низший)алкокси-, циклоалкил или гетероцикл, или в котором

R_1 представляет собой

прямую алкильную цепь, содержащую 1-3 атома углерода, незамещенную или содержащую 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой арил-, арилокси-, арил(низший)алкокси-, низший алкиламино-, ариламино-, арил(низший)алкиламино-, циклоалкил или гетероцикл,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное, незамещенное гетероциклическое кольцо, низший алкокси-, низший алкиламино-, ариламино- или арил(низший)алкиламино-;

R_2 представляет собой прямую или разветвленную незамещенную алкильную цепь, содержащую 1-4 атома углерода;

R_3 представляет собой

H, циано- или COR^4 , причем R^4 представляет собой H или низший алкил-, причем указанный низший алкил является незамещенным или замещен гидроксильной.

Другую возможную подгруппу соединений формулы (I) образует соединение, в котором

X представляет собой C;
 пунктирная линия представляет собой двойную связь;
 R₁ представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-10 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой COOR⁴, COR⁴, CR⁴(OR⁵)₂, COCH₂OR⁶, циано, гидроксигруппа, оксо, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший) алкокси, нитро, amino, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл; причем R⁴ представляет собой H, низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероцикл, арил или аралкил, R⁵ представляет собой низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, арил или аралкил и R⁶ представляет собой H, низший алкил, низший ацил или галоген,

прямую или разветвленную алкенильную цепь, содержащую 2-10 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-3 заместителя, как описано выше для алкильной группы,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное гетероциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

замещенную или незамещенную алкильную или алкенильную группу, как определено выше, включенную в качестве группового члена в замещенное или незамещенное карбоциклическое кольцо или гетероциклическое кольцо, как определено выше,

гидроксигруппа, низший алкокси, арилокси, арил(низший) алкокси, amino, amino(низший)алкил, низший алкиламино, ариламино или арил(низшую)алкиламиногруппы, причем указанные алкил, арил или amino-подгруппы являются незамещенными или содержащими 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы;

R₂ представляет собой H;

R₃ представляет собой

H, циано, гидроксигруппа, оксо, галоген, низший алкил, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, amino, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл, причем указанные алкильные подгруппы являются незамещенными или содержащими 1-3 заместителя, как описано выше для алкильной группы в обозначении R₁,

или R₃ представляет собой COOR⁴, COR⁴, CR⁴(OR⁵)₂ или COCH₂OR⁶, причем R⁴ представляет собой H, низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероцикл, арил, amino, низший алкиламино, ариламино или низший алкиламино, причем указанный низший алкил является незамещенным или содержащим 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой циано, гидроксигруппа, оксо, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, amino, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл, R⁵ представляет собой низший алкил, низший алкенил, циклоалкил, циклоалкенил, арил или аралкил и R⁶ представляет собой низший ацил или галоген, или их фармацевтически приемлемые соли или сложные эфиры; например в котором

R₁ представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-5 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой гидроксигруппа, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, amino, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное гетероциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

замещенную или незамещенную алкильную или алкенильную группу, как определено выше, включенную в качестве группового члена в замещенное или незамещенное карбоциклическое кольцо или гетероциклическое кольцо, как определено выше,

гидроксигруппа, низший алкокси, арилокси, арил(низший)алкокси, amino, amino(низший)алкил, низший алкиламино, ариламино или арил(низшую)алкиламиногруппы, причем указанные алкил, арил или amino-подгруппы являются незамещенными или содержащими 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы;

R₃ представляет собой

H, циано или COR⁴, причем R⁴ представляет собой H, низший алкил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероцикл или арил, причем указанный низший алкил является незамещенным или содержащим 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой гидроксигруппа, оксо, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, циклоалкил или гетероцикл, или в котором

R_1 представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-3 атома углерода, незамещенную или содержащую 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой арил, арилокси, арил (низший)алкокси, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное, незамещенное гетероциклическое кольцо, низший алкокси, амино(низший)алкил, низший алкиламино, ариламино или арил(низший)алкиламино, причем аминоподгруппы являются незамещенными или замещены низшим алкилом;

R_3 представляет собой

H, циано или COR^4 , причем R^4 представляет собой H или низший алкил, причем указанный низший алкил является незамещенным или замещен гидроксилом.

Различные заместители и группы, использованные в данной заявке, определены следующим образом.

«Низший алкил» означает прямую или разветвленную насыщенную углеводородную цепь, содержащую 1-7, возможно 1-5 атомов углерода. Представительные примеры включают, но не ограничиваются ими, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, и т.п.

«Низший алкенил» означает прямую или разветвленную ненасыщенную углеводородную цепь, содержащую 2-7, возможно 2-5 атомов углерода и двойную связь(и). Представительные примеры включают, но не ограничиваются ими, этенил, пропенил, бутенил, пентенил и т.п.

«Низший алкинил» означает прямую или разветвленную ненасыщенную углеводородную цепь, содержащую 2-7, возможно 2-5 атомов углерода и тройную связь(и). Представительные примеры включают, но не ограничиваются ими, этинил, пропирил, бутирил, пентинил и т.п.

«Низший алкокси» сам по себе или в группе «арил(низший) алкокси» представляет собой алкоксильную группу, содержащую 1-7, возможно 1-5 атомов углерода. Представительные примеры включают, но не ограничиваются ими, метоксил, этоксил, пропоксил, изопропоксил, бутоксил, втор-бутоксил, трет-бутоксил и пентоксил, фенилметоксил, фенилэтоксил и т.п.

«Низший алкиламино» представляет собой алкил- или диалкиламиногруппу, содержащую 1-7 атомов углерода в алкильной группе(ax). Представительные примеры включают, но не ограничиваются ими, метиламино, этиламино, пропиламино, изопропиламино, бутиламино, пентиламино, диметиламино, диэтиламино, N-этил-N-метиламино и т.п. группы.

«Низший ацил» представляет собой ацильную группу, содержащую 2-7 атомов углерода. Представительные примеры включают, но не ограничиваются ими, ацетил, пропаноил, изопропаноил, бутаноил, втор-бутаноил, трет-бутаноил, пентаноил и т.п.

«Циклоалкил», «циклоалкенильная группа» или «карбоциклическое кольцо» представляет собой насыщенную или ненасыщенную циклическую углеводородную группу, содержащую 3-7, возможно 5-7 атомов углерода. Представительные примеры включают, но не ограничиваются ими, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, фенил и т.п.

«Гетероциклическое кольцо» или «гетероциклическая» группа представляют собой насыщенное или ненасыщенное 3-7-, возможно 5-7-членное гетероциклическое кольцо, содержащее 1-3 гетероатома, выбранных из атома азота, атома кислорода и/или атома серы. Представительные примеры включают, но не ограничиваются ими, пиррол, пиридин, пиримидин, азепин, фуран, пиран, оксепин, тиофен, тиопиран, тиепин, тиазол, имидазол, тетразол или их соответствующие гидратированные или частично гидратированные производные и т.п.

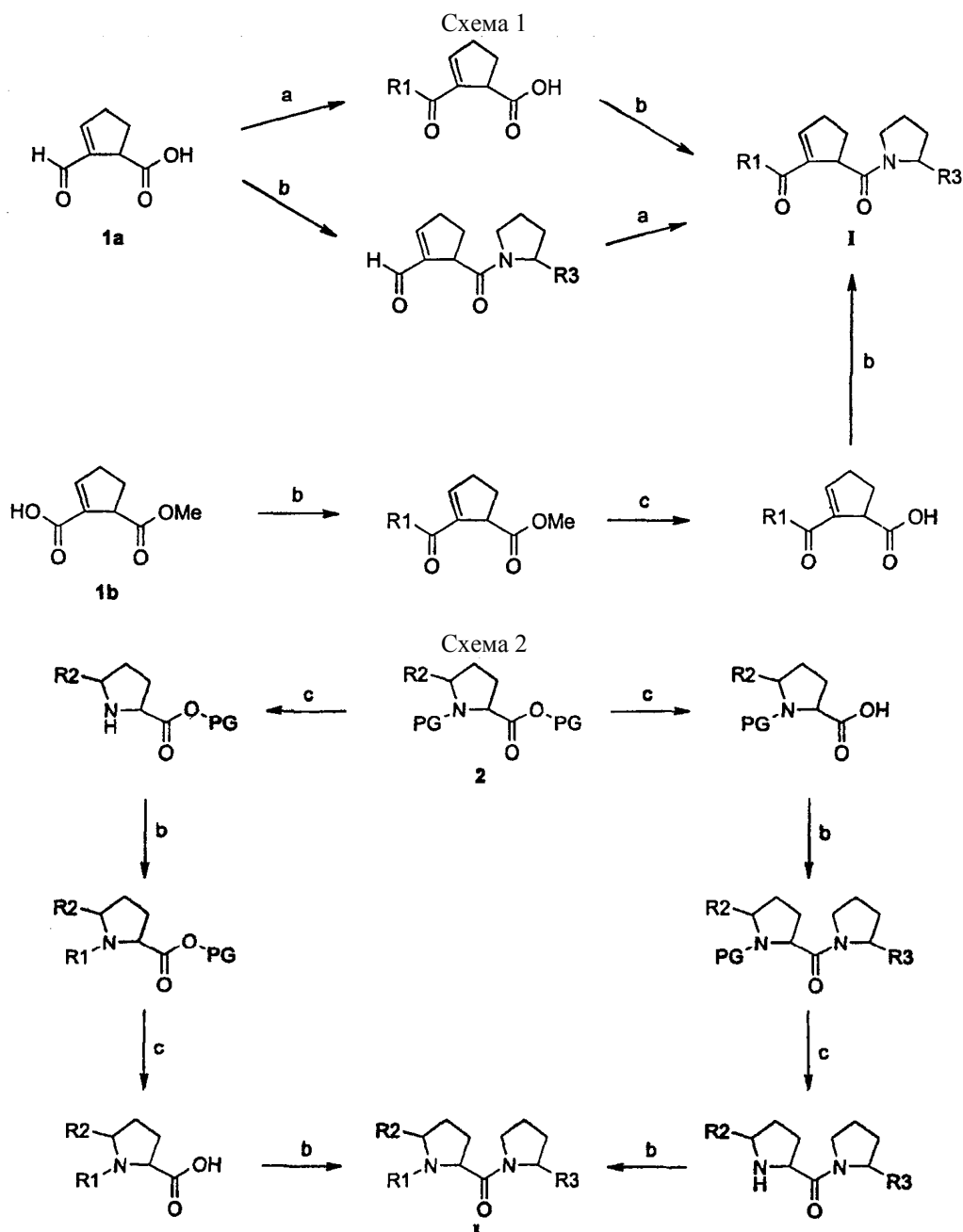
«Арил» сам по себе или как часть «аралкила», особенно «арил-низший алкил» группы или как часть «арилоксила» или «ариламина» представляет собой ароматическую группу, содержащую 6-12 атомов углерода и может быть моноциклической арильной группой, например фенильной.

«Атом галогена» означает хлор, бром, фтор или иод.

В целом, соединения формулы (I) можно синтезировать, исходя из соединений 1a и 1b и соединений общей структуры 2 согласно схемам 1 и 2.

Соединения 1a и 1b получены по методике Noteberg, D. et al. (J. Med. Chem. 2000, 43, 1705-1713).

Соединения структуры 2 с различными группами R_2 и с различными защитными группами PG или без них получают по известной методике синтеза, описанной в литературе, например Beausoleil, E. et al. (J. Org. Chem. 1996, 61, 9447-9454), Collado, I. et al. (J. Org. Chem. 1995, 60, 5011-5015), Gershon, H. et al. (J. Org. Chem. 1961, 26, 2347-2350), Ho, T.L. et al. (J. Org. Chem. 1986, 51, 2405-2408), Ibrahim, H. et al. (J. Org. Chem. 1993, 58, 6438-6441), Overberger, C.G. et al. (Macromolecules 1972, 5, 368-372), Pyne, S.G. et al., (Tetrahedron 1995, 51, 5157-5168), Sanno, Y. et al. (Yakugaku Zasshi 1958, 78, 1113-1118), Van der Werf, A. et al. (Tetrahedron Lett. 1991, 32, 3727-3730), Wei, L. et al. (Org. Lett. 2000, 2, 2595-2598) и Wistradron, L.-G. et al., (Tetrahedron 1991, 47, 573-582).



Реакции в схемах 1 и 2 могут быть следующих типов: а) образование кетонов из альдегидов и металлорганических реагентов типа реагентов Гриньяра, б) образование амидов из карбоновых кислот и аминов и с) снятие защитных групп, таких как сложноэфирная и карбаматная. Все эти реакции хорошо известны в области органической химии.

Для получения солей соединений формулы (I) можно использовать подходящие фармацевтически приемлемые кислоты или основания, например соляную, бромисто-водородную, серную, фосфорную или азотную кислоты или органическую кислоту, например уксусную, пропионовую, янтарную, гликолевую, молочную, малеиновую, малоновую, винную, лимонную, фумаровую, метансульфоновую, п-толуолсульфоновую и аскорбиновую, а также получать соли аминокислот, например аспарагиновой и глутаминовой. Подходящими неорганическими основаниями являются, например, гидроксиды и карбонаты щелочных и щелочно-земельных металлов или аммония, а также органические основания, такие как органические амины, например триалкиламины, пиридин и т.п.

Было установлено, что к усилению ингибирующей активности приводит присутствие заместителя R_2 в соединениях, в которых X представляет собой N и пунктирная линия в формуле (I) представляет собой ординарную связь, и наличие двойной связи, представленной пунктирной линией в формуле (I) соединений, в которых X означает C.

Новые соединения настоящего изобретения можно применять для лечения болезненных состояний, которые лечатся ингибиторами пролилолигопептидазы. Соединения настоящего изобретения можно вводить, например, перорально, парентерально, местно или ректально с помощью любых фармацевтиче-

ских препаратов, используемых для указанного введения и содержащих указанное соединение в фармацевтически приемлемых и эффективных количествах вместе с фармацевтически приемлемыми носителями, адьювантами или переносчиками, известными в данной области. Производство таких фармацевтических препаратов хорошо известно специалистам.

Так, фармацевтические композиции могут быть в дозах, пригодных для перорального применения, например в таблетках, капсулах, жидких формах, например суспензиях, эмульсиях, сиропах и т.п. Все эти препараты готовят с помощью известных способов с применением носителей, адьювантов и добавок. Соединения настоящего изобретения можно вводить парентерально, например в виде настоев и инъекций, например с использованием водных или масляных суспензий, эмульсий или дисперсий, содержащих активный ингредиент в комбинации с традиционными фармацевтически приемлемыми эксципиентами. Препараты для ректального использования представляют собой суппозитории, содержащие активный ингредиент в комбинации с носителями, подходящими для ректального использования.

Терапевтическая доза, назначаемая пациенту, нуждающемуся в лечении, будет варьироваться в зависимости от веса и возраста пациента, особенностей состояния, которое надо лечить, а также способа введения, и специалист может легко ее определить. Обычно доза для перорального использования, содержащая от 0,01 мг до 5 г, обычно 0,1-500 мг активного компонента, которую надо вводить 1-3 раза в день, подойдет для большинства случаев.

Следующие примеры иллюстрируют изобретение, никоим образом не ограничивая его применение.

Основные методики синтезов

Масс-спектры положительных ионов получали электроспрей-ионизацией (ESI-MS) с использованием квадрупольного масс-спектрометра с ионной ловушкой Finnegan MAT LCQ, снабженного электроспрей-ионизационным ионным источником (ESI). Спектры ЯМР ^{13}C регистрировали на спектрометре Bruker Avance 500 (125,8 МГц для ^{13}C) или спектрометре Bruker AM 400 (100,6 МГц для ^{13}C), в качестве растворителя использовали CDCl_3 , химические сдвиги выражены в м.д. относительно внутреннего стандарта тетраметилсилана. Элементный CHN-анализ сжиганием проводили на анализаторе EA1110 ThermoQuest CE Instruments. Все химические реагенты и растворители были коммерческого качества, при необходимости их очищали по стандартным методикам. Некоторые промежуточные продукты и все конечные продукты очищали методом флэш-хроматографии (30-60 мкм силикагель для флэш, J.T. Baker) с подходящим элюентом.

Методика А. Общая методика синтеза 2-(1-гидроксиалкил)циклопент-2-еновых кислот.

Раствор 2-формилциклопент-2-еновой кислоты (1,0 ммоль) в безводном диэтиловом эфире добавляли к алкилмагнийбромиду (полученному из соответствующего алкилбромида (2-4 ммоль) и магния (2-4 ммоль) в безводном диэтиловом эфире с использованием кристалла иода в качестве инициатора) при комнатной температуре. Через 2 ч реакционную смесь выливали в холодный насыщенный раствор NH_4Cl . Раствор подкисляли соляной кислотой и продукт экстрагировали дихлорметаном.

Дихлорметановую вытяжку сушили и упаривали.

Методика В. Общая методика синтеза 2-ацилциклопент-2-еновых кислот.

Диметилсульфоксид (2-3 ммоль) добавляли к раствору оксалилхлорида (1,0-1,5 ммоль) в дихлорметане (4 мл) при -80°C . Через 15 мин добавляли раствор 2-(1-гидроксиалкил)циклопент-2-еновой кислоты (1,0 ммоль) в дихлорметане (2 мл). Реакционную смесь выдерживали в течение 1 ч при -80°C и затем добавляли триэтиламин (4-6 ммоль). Далее реакционную смесь перемешивали в течение 5 мин при -80°C , прежде чем давали нагреться до комнатной температуры. Органическую фазу экстрагировали 5% NaOH . Водную фазу подкисляли соляной кислотой и продукт экстрагировали дихлорметаном. Дихлорметановую вытяжку сушили и упаривали.

Методика С. Общая методика сочетания амина с карбоновой кислотой в присутствии пивалоилхлорида.

Пивалоилхлорид (1,0 ммоль) добавляли к раствору карбоновой кислоты (1,0 ммоль) и триэтиламина (1,1 ммоль) в дихлорметане при 0°C . Через 1 ч добавляли триэтиламин (1,1 ммоль или 3,3 ммоль, если амин был в виде соли с HCl или трифторуксусной кислотой) и амин (1,0-1,1 ммоль) и оставляли реакционную смесь для реакции в течение 3-20 ч при комнатной температуре. Раствор в дихлорметане промывали 30% лимонной кислотой, насыщенным раствором NaCl и насыщенным раствором NaHCO_3 . Дихлорметановый раствор сушили и упаривали.

Методика D. Методика гидролиза метиловой или этиловой сложноэфирных групп.

Гидроксид лития (1,5-6,0 ммоль) и эфир карбоновой кислоты (1,0 ммоль) растворяли в малом объеме смеси вода-метанол. После завершения реакции растворитель (метанол) упаривали и добавляли воду. Водную фазу промывали дихлорметаном. Затем водную фазу подкисляли соляной кислотой и продукт экстрагировали дихлорметаном. Дихлорметановый раствор сушили и упаривали.

Методика E. Удаление защитной Вос-группы из амина.

Амин с защитной Вос-группой (1,0 ммоль) растворяли в дихлорметане (5-10 мл) и добавляли трифторуксусную кислоту (2-4 мл) при 0°C . Реакционную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч. Растворитель упаривали и получали соль амина и трифторуксусной кислоты.

Методика F. Гидролиз O-ацетильной группы.

K_2CO_3 (1,1 ммоль) добавляли к раствору O-ацетильного соединения (1,0 ммоль) в смеси вода-метанол (6 мл) при 0°C. Реакционную смесь перемешивали 10 мин при 0°C и затем 50 мин при комнатной температуре. Растворитель (метанол) упаривали. Добавляли дихлорметан и насыщенный раствор NaCl и разделяли фазы. Дихлорметановый раствор промывали однократно насыщенным раствором NaCl, сушили и упаривали.

Методика G. Превращение карбоновой кислоты в амид карбоновой кислоты.

Этилхлорформиат (1,0 ммоль) добавляли к раствору карбоновой кислоты (1,0 ммоль) и триэтиламина (1,0 ммоль) в безводном тетрагидрофуране при -10°C. Через 20 мин добавляли 25% NH_3 (0,068 мл) при -10°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение ночи. Растворитель упаривали и остаток растворяли в дихлорметане. Дихлорметановый раствор промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$. Затем дихлорметановый раствор сушили и упаривали.

Методика H. Превращение амида карбоновой кислоты в цианогруппу.

Трифторуксусный ангидрид (1,5 ммоль) добавляли к раствору амида карбоновой кислоты (1,0 ммоль) и триэтиламина (3 ммоль) в безводном тетрагидрофуране. Через 2-3 ч добавляли воду (10 мл) и раствор упаривали. Остаток растворяли в дихлорметане. Дихлорметановый раствор промывали 30% лимонной кислотой, насыщенным раствором NaCl и насыщенным раствором $NaHCO_3$. Затем дихлорметановый раствор сушили и упаривали.

Получение исходных веществ Получение исходных материалов

Метиловый эфир L-пролина, HCl-соль.

Тионилхлорид (16 мл, 220 ммоль) добавляли к раствору L-пролина (10 г, 87 ммоль) в метаноле (200 мл) при 0°C. Реакционную смесь кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Растворитель упаривали, выход 14 г (86 ммоль).

Вос-2(S)-(Ацетоксиацетил)пирролидин.

Этилхлорформиат (3,14 мл, 33 ммоль) добавляли к раствору Вос-L-пролина (6,46 г, 30 ммоль) и триэтиламина (4,60 мл, 33 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (100 мл) при -20°C. Реакционную смесь перемешивали при -20°C в течение 30 мин. Затем к реакционной смеси при -20°C добавляли раствор диазометана (полученного согласно Aldrich Technical Bulletin AL-180 из N-метил-N-нитрозо-4-толуолсульфонамида (6,4 г, 30 ммоль)) в диэтиловом эфире. Реакционную смесь перемешивали при -20°C в течение 1 ч, после чего реакционную смесь перемешивали при -20°C в течение ночи. Добавляли толуол (120 мл) и органическую фазу промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ и водой. Органическую фазу сушили и упаривали. Остаток растворяли в уксусной кислоте (30 мл) и раствор перемешивали при 100°C в течение 10 мин. Реакционную смесь упаривали. Остаток растворяли в этилацетате и раствор промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$ и водой. Фазу этилацетата сушили и упаривали. Продукт очищали методом флэш-хроматографии, выход 1,94 г (7,2 ммоль).

Синтез продуктов

Пример 1.

Метиловый эфир 2-(бензилкарбамоил)циклопент-2-еновой кислоты.

Дициклогексилкарбодимид (3,06 г, 14,8 ммоль) добавляли к раствору 1-метилового эфира циклопент-2-ен-1,2-дикарбоновой кислоты (1,68 г, 9,9 ммоль), бензиламина (1,62 мл, 14,8 ммоль), гидроксibenзотриазола (2,27 г, 14,8 ммоль) и триэтиламина (2,07 мл, 14,8 ммоль) в ацетонитриле при 0°C. Через 30 мин реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры и оставляли на ночь при комнатной температуре. Растворитель упаривали и остаток растворяли в дихлорметане. Раствор в дихлорметане промывали насыщенным раствором $NaHCO_3$, насыщенным раствором NaCl и 30% лимонной кислотой. Фазу дихлорметана сушили и упаривали. Продукт очищали методом флэш-хроматографии, выход 2,58 г (9,9 ммоль).

2-(Бензилкарбамоил)циклопент-2-еновая кислота.

Метильную сложноэфирную группу метилового эфира 2-бензилкарбамоилциклопент-2-еновой кислоты (2,58 г, 9,9 ммоль) гидролизовали по методике D. Выход 2,19 г (8,9 ммоль).

Метил-L-пролинамид 2-(бензилкарбамоил)циклопент-2-еновой кислоты.

2-(Бензилкарбамоил)циклопент-2-еновую кислоту (2,19 г, 8,9 ммоль) и метиловый эфир пролина (1,48 г, 8,9 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали флэш-хроматографией, выход 2,64 г (7,4 ммоль).

L-Пролинамид 2-(бензилкарбамоил)циклопент-2-еновой кислоты.

Метильную сложноэфирную группу амида, полученного из 2-(бензилкарбамоил)циклопент-2-еновой кислоты и метилового эфира L-пролина (2,64 г, 7,4 ммоль), гидролизовали по методике D. Выход 2,32 г (6,8 ммоль).

Амид L-пролиламида-2-(бензилкарбамоил)циклопент-2-еновой кислоты.

Получали по методике G с использованием 2-(бензилкарбамоил)циклопент-2-еновой кислоты (2,32 г, 6,8 ммоль) в качестве исходного вещества. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 2,3 г (6,8 ммоль).

2(S)-Цианопирролидинамид 2-(бензилкарбамоил)циклопент-2-еновой кислоты.

Получен по методике Н с использованием амида L-пропиламида-2-(бензилкарбамоил)циклопент-2-еновой кислоты (2,3 г, 6,8 ммоль). Очистку и выделение диастереомеров осуществляли методом флэш-хроматографии, выход одного из диастереомеров 0,12 г (0,37 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 25,22, 27,88, 30,00, 33,04, 43,43, 46,47, 46,76, 48,99, 118,73, 127,41, 127,64, 128,69, 137,80, 138,27, 139,45, 165,06, 173,96.

Анализ ($\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_2 \cdot 0,3\text{H}_2\text{O}$): вычислено С: 69,41, Н: 6,62, N: 12,78; найдено С: 69,51, Н: 6,54, N: 12,58.

Пример 2.

2(S)-(Ацетоксиацетил)пирролидинамид 2-бензилкарбамоилциклопент-2-еновой кислоты.

2-Бензилкарбамоилциклопент-2-еновую кислоту (0,86 г, 3,5 ммоль) и 2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидиновую соль трифторуксусной кислоты (полученную из Вос-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (0,95 г, 3,5 ммоль) по методике Е) вводили в реакцию сочетания по методике С. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,82 г (2,1 ммоль).

2(S)-(Гидроксиацетил)пирролидинамид 2-бензилкарбамоилциклопент-2-еновой кислоты.

Ацетильную группу 2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидинамида 2-бензилкарбамоилциклопент-2-еновой кислоты (0,82 г, 2,1 ммоль) гидролизовали по методике F. Очистку и выделение диастереомеров осуществляли методом флэш-хроматографии, выход более активного диастереомера 0,21 г (0,58 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 25,15, 27,55, 28,51, 32,94, 43,47, 47,80, 49,00, 61,20, 67,06, 127,40, 127,64, 128,66, 138,24, 138,36, 139,11, 165,80, 174,21, 209,28.

ESI-MS: m/z 357 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Анал. ($\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0,1\text{H}_2\text{O}$): вычислено С: 67,06, Н: 6,81, N: 7,82; найдено С: 66,98, Н: 6,86, N: 7,62.

Пример 3.

Пирролидинамид 2-бензилкарбамоилциклопент-2-еновой кислоты.

2-Бензилкарбамоилциклопент-2-еновую кислоту (0,46 г, 1,9 ммоль) и пирролидин (0,16 мл, 1,9 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике С. Очищали методом флэш-хроматографии, выход рацемического продукта 0,39 г (1,3 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 24,36, 26,13, 28,12, 32,75, 43,36, 45,93, 46,90, 49,50, 127,21, 127,64, 128,57, 137,55, 138,60, 140,05, 165,61, 173,22.

ESI-MS: m/z 299 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Анал. ($\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 0,2\text{H}_2\text{O}$): вычислено С: 71,59, Н: 7,48, N: 9,28; найдено С: 71,43, Н: 7,55, N: 9,19.

Пример 4.

2-(1-Гидрокси-2-фенилэтил)циклопент-2-еновая кислота.

Получена по методике А с использованием 2-формилциклопент-2-еновой кислоты (2,1 г, 15,0 ммоль) и бензилбромид (7,2 мл, 60 ммоль) в качестве исходных веществ. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,80 г (3,5 ммоль).

2-Бензилкарбонилциклопент-2-еновая кислота.

2-(1-Гидрокси-2-фенилэтил)циклопент-2-еновую кислоту (0,26 г, 1,1 ммоль) окисляли по методике В. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,074 г (0,32 ммоль).

Пирролидинамид 2-бензилкарбонилциклопент-2-еновой кислоты.

2-Бензоилциклопент-2-еновую кислоту (0,14 г, 0,61 ммоль) и пирролидин (0,051 мл, 0,67 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике С. Очищали методом флэш-хроматографии, выход рацемического продукта 0,12 г (0,42 ммоль).

^{13}C -ЯМР: δ 24,43, 26,11, 28,15, 33,79, 45,67, 45,84, 46,89, 47,92, 126,72, 128,52, 129,50, 134,88, 145,20, 146,72, 172,83, 195,46.

ESI-MS: m/z 284 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

Анал. ($\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_2$): вычислено С: 76,30, Н: 7,47, N: 4,94; найдено: С: 76,17, Н: 7,69, N: 4,94.

Пример 5.

2-(1-Гидрокси-4-фенилбутил)циклопент-2-еновая кислота.

Получена по методике А с использованием 2-формилциклопент-2-еновой кислоты (2,1 г, 15 ммоль) и 1-бром-3-фенилпропана (4,8 г, 31,5 ммоль) в качестве исходных веществ. Очищали флэш-хроматографией, выход 1,31 г (5,0 ммоль).

2-(4-Фенилбутаноил)циклопент-2-еновая кислота.

2-(1-Гидрокси-4-фенилбутил)циклопент-2-еновую кислоту (1,31 г, 5,0 ммоль) окисляли по методике В. Очищали флэш-хроматографией, выход 0,39 г (1,5 ммоль).

2-(4-Фенилбутаноил)циклопент-2-еновая кислота (L-пролинметилловый эфир)амид.

2-(4-Фенилбутаноил)циклопент-2-еновую кислоту (0,58 г, 2,3 ммоль) и пролинметилловый эфир (0,37 г, 2,3 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике С. Выход 0,64 г (1,7 ммоль).

L-Пролинамид 2-(4-фенилбутаноил)циклопент-2-еновой кислоты.

Метильную сложноэфирную группу (L-пролинметилловый эфир)амида 2-(4-фенилбутаноил)циклопент-2-еновой кислоты (0,64 г, 1,7 ммоль) гидролизовали по методике D. Выход 0,58 г (1,6 ммоль).

Амид L-пролиламида-2-(4-фенилбутаноил)циклопент-2-еновой кислоты.

Получен по методике G с использованием L-пролиламида 2-(4-фенилбутаноил)циклопент-2-еновой кислоты (0,58 г, 1,6 ммоль) в качестве исходного вещества. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,50 г (1,4 ммоль).

2(S)-Цианпирролидинамид 2-(4-фенилбутаноил)циклопент-2-еновой кислоты.

Получен по методике H с использованием L-пролиламида 2-(4-фенилбутаноил)циклопент-2-еновой кислоты (0,50 г, 1,4 ммоль). Очистку и выделение диастереомеров осуществляли методом флэш-хроматографии, выход более активного диастереомера 190 мг (0,56 ммоль).

¹³C ЯМР: δ 24,74, 25,20, 27,41, 29,52, 33,16, 34,62, 37,33, 45,97, 46,29, 47,00, 118,31, 125,41, 127,84, 127,98, 141,10, 144,10, 145,86, 173,20, 197,84.

ESI-MS: m/z 337,0 (M+H)⁺.

Анал. (C₂₁H₂₄N₂O₂·0,1H₂O): вычислено C: 74,57, H: 7,21, N: 8,28; найдено C: 74,28, H: 7,53, N: 7,93.

Пример 6.

Пирролидинамид 2-(4-фенилбутаноил)циклопент-2-еновой кислоты.

2-(4-Фенилбутаноил)циклопент-2-еновую кислоту (0,23 г, 0,89 ммоль) и пирролидин (0,074 мл, 0,89 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали методом флэш-хроматографии, выход рацемического продукта 0,21 г (0,69 ммоль).

¹³C ЯМР: δ 24,45, 25,68, 26,15, 28,07, 33,56, 35,19, 37,99, 45,82, 46,89, 47,84, 125,84, 128,31, 128,53, 141,80, 145,27, 145,39, 172,92, 198,28.

ESI-MS: m/z 312 (M+H)⁺.

Анал. (C₂₀H₂₅NO₂): вычислено C: 77,14, H: 8,09, N: 4,50; найдено C: 77,09, H: 8,30, N: 4,38.

Пример 7.

Метиловый эфир (2S)-5-оксо-2-[N-(бензилоксикарбонил)амино]гексановой кислоты.

(2S)-5-Оксо-2-[N-(бензилоксикарбонил)амино]гексановую кислоту (3,45 г, 12,3 ммоль) (полученную по методике Но, T.L. et al. (J. Org. Chem. 1986, 51, 2405-2408)) метилировали небольшим избытком диазометана (полученного согласно Aldrich Technical Bulletin AL-180) в безводном тетрагидрофуране при 0°C. Реакционную смесь оставляли на ночь при 4°C. Растворитель упаривали и остаток растворяли в диэтиловом эфире. Раствор в диэтиловом эфире промывали водой и насыщенным раствором NaHCO₃. Раствор диэтилового эфира сушили и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 1,5 г (5,1 ммоль).

Метиловый эфир Вос-5(R)-метил-L-пролина.

Получали по реакции метилового эфира (2S)-5-оксо-2-[N-(бензилоксикарбонил)амино]гексановой кислоты (1,5 г, 5,1 ммоль) и ди-трет-бутилдикарбоната (3,1 г, 14,0 ммоль) с 10% Pd/C (0,28 г) в метаноле при давлении H₂ 4 атм в течение ночи. Раствор фильтровали через целит и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,90 г (3,7 ммоль).

Этиловый эфир 4-фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролина.

4-Фенилбутаноилхлорид (получен из 4-фенилбутановой кислоты (0,73 г, 4,4 ммоль) и тионилхлорида (0,64 мл, 8,9 ммоль)) добавляли к раствору трифторуксусной кислоты соли этилового эфира 5(R)-метил-L-пролина (полученной из этилового эфира Вос-5(R)-метил-L-пролина (0,90 г, 3,7 ммоль) по методике E) и триэтиламина (2,1 мл, 15,0 ммоль) в дихлорметане при 0°C, после чего перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Дихлорметановый раствор промывали 30% лимонной кислотой, насыщенным раствором NaCl и насыщенным раствором NaHCO₃. Дихлорметановый раствор сушили и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,74 г (2,6 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролин.

Этильную сложноэфирную группу этилового эфира 4-фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролина (0,74 г, 2,6 ммоль) гидролизovali по методике D. Выход 0,67 г (2,4 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролилпирролидин.

4-Фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролин (0,67 г, 2,4 ммоль) и пирролидин (0,22 мл, 2,7 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,53 г (1,6 ммоль).

¹³C ЯМР: δ 20,51, 24,16, 26,21, 26,22, 26,99, 32,85, 32,89, 35,21, 46,02, 46,35, 54,28, 58,87, 125,80, 128,27, 128,52, 141,75, 170,69, 171,03.

Анал. (C₂₀H₂₈N₂O₂·0,3H₂O): вычислено C: 71,95, H: 8,63, N: 8,39; найдено C: 72,14, H: 8,76, N: 8,34.

Пример 8.

4-Фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролил-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидин.

4-Фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролин (0,23 г, 0,84 ммоль) и трифторуксусную кислотую соль 2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (полученную из Вос-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (0,23 г, 0,84 ммоль) по методике E) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,23 г (0,54 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролил-2(S)-(гидроксиацетил)пирролидин.

Получен по методике F с использованием 4-фенилбутаноил-5(R)-метил-L-пролил-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (0,23 г, 0,54 ммоль) в качестве исходного вещества. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,11 г (0,29 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 20,65, 25,34, 26,23, 26,82, 28,25, 32,84, 32,90, 35,23, 47,19, 54,30, 58,56, 61,27, 66,96, 125,88, 128,32, 128,50, 141,66, 171,21, 171,33, 209,05.

ESI-MS: m/z 387 (M+H) $^+$.

Анал. (C₂₂H₃₀N₂O₄·0,5H₂O): вычислено C: 66,81, H: 7,90, N: 7,08; найдено C: 66,82, H: 7,83, N: 6,83.

Пример 9.

Метиловый эфир Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролина.

Получен по методике Lubell, W.D. et al. (J. Org. Chem. 1996, 61, 9447-9454), с небольшим изменением, заключающимся в том, что 9-(9-фенилфлуоренил)защитная группа заменена в методике синтеза на тритильную. Основная часть диастереомера выделена методом флэш-хроматографии.

Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролин.

Метильную сложноэфирную группу метилового эфира Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролина (1,14 г, 4,0 ммоль) гидролизовали по методике D. Выход 0,88 г (3,2 ммоль).

Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролилпирролидин.

Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролин (0,88 г, 3,2 ммоль) и пирролидин (0,27 мл, 3,2 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,87 г (2,7 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 24,09, 26,35, 27,08, 27,59, 28,38, 28,85, 36,36, 45,96, 45,99, 61,00, 66,69, 79,60, 156,21, 171,15.

ESI-MS: m/z 325 (M+H) $^+$.

Анал. (C₁₈H₃₂N₂O₃): вычислено C: 66,63, H: 9,94, N: 8,63; найдено C: 66,28, H: 9,95, N: 8,57.

Пример 10.

Ацетил-5(R)-трет-бутил-L-пролилпирролидин.

Уксусный ангидрид (0,15 мл, 1,5 ммоль) добавляли к раствору трифторуксусной кислоты соли 5(R)-трет-бутил-L-пролилпирролидина (полученной из Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролилпирролидина (0,25 г, 0,77 ммоль) по методике E) и триэтиламина (0,40 мл, 3,1 ммоль) в дихлорметане при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Дихлорметановый раствор промывали 30% лимонной кислотой, насыщенным раствором NaCl и насыщенным раствором NaHCO₃. Дихлорметановый раствор сушили и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,17 г (0,65 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 22,74, 23,17, 23,94, 24,08, 26,25, 26,29, 26,42, 27,61, 27,95, 28,12, 29,65, 36,62, 36,64, 45,97, 45,98, 46,01, 46,31, 60,78, 61,81, 65,64, 68,18, 170,30, 170,46, 172,00, 172,02 (все атомы углерода, кроме одного, дают двойные пики).

ESI-MS: m/z 267 (M+H) $^+$.

Анал. (C₁₅H₂₆N₂O₂): вычислено C: 67,63, H: 9,84, N: 10,52; найдено C: 67,79, H: 10,16, N: 10,68.

Пример 11.

4-Фенилбутаноил-5(R)-трет-бутил-L-пролилпирролидин.

4-Фенилбутаноилхлорид (полученный из 4-фенилбутановой кислоты (0,39 г, 2,4 ммоль) и тионилхлорида (0,21 мл, 2,9 ммоль)) добавляли к раствору трифторуксусной кислоты соли 5(R)-трет-бутил-L-пролилпирролидина (полученной из Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролилпирролидина (0,63 г, 1,9 ммоль) по методике E) и триэтиламина (0,89 мл, 6,4 ммоль) в дихлорметане при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Раствор в дихлорметане промывали 30% лимонной кислотой, насыщенным раствором NaCl и насыщенным раствором NaHCO₃. Дихлорметановый раствор сушили и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,61 г (1,6 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 23,90, 24,09, 25,92, 26,18, 26,34, 26,78, 27,41, 27,68, 27,93, 28,12, 29,60, 29,71, 33,07, 33,88, 35,12, 35,27, 36,44, 36,62, 45,76, 45,97, 46,00, 46,17, 60,82, 60,99, 65,72, 67,04, 125,74, 125,86, 128,25, 128,30, 128,51, 128,62, 141,75, 142,03, 170,34, 170,53, 173,99, 174,26.

ESI-MS: m/z 371 (M+H) $^+$.

Анал. (C₂₃H₃₄N₂O₂·0,2H₂O): вычислено C: 73,84, H: 9,27, N: 7,49; найдено C: 73,91, H: 9,35, N: 7,17.

Пример 12.

Метиловый эфир 4-фенилбутаноил-5(R)-трет-бутил-L-пролина.

4-Фенилбутаноилхлорид (полученный из 4-фенилбутановой кислоты (0,76 г, 4,6 ммоль) и тионилхлорида (0,50 мл, 6,9 ммоль)) добавляли к раствору трифторуксусной кислоты соли метилового эфира 5(R)-трет-бутил-L-пролина (полученного из метилового эфира Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролина (1,1 г, 3,8 ммоль) по методике E) и триэтиламина (2,1 мл, 15,3 ммоль) в дихлорметане при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 4 ч. Раствор в дихлорметане промывали 30% лимонной кислотой, насыщенным раствором NaCl и насыщенным раствором NaHCO₃. Дихлорметановый раствор сушили и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,73 г (2,2 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(R)-трет-бутил-L-пролин.

Метильную сложноэфирную группу метилового эфира 4-фенилбутаноил-5(R)-трет-бутил-L-пролина (0,68 г, 2,1 ммоль) гидролизовали по методике D. Выход 0,58 г (1,8 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(R)-трет-бутил-L-пролил-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидин.

4-Фенилбутаноил-5(R)-трет-бутил-L-пролин (0,58 г, 1,8 ммоль) и трифторуксусную кислоту соль 2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (полученную из Вос-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (0,50 г, 1,8 ммоль) по методике E) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,30 г (0,64 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(R)-трет-бутил-L-пролил-2(S)-(гидроксиацетил)пирролидин.

Получали по методике F с использованием 4-фенилбутаноил-5(R)-трет-бутил-L-пролил-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (0,30 г, 0,64 ммоль) в качестве исходного вещества. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,26 г (0,61 ммоль).

¹³C ЯМР: δ 25,37, 25,42, 25,82, 26,06, 26,76, 27,15, 27,57, 27,82, 28,06, 28,07, 29,15, 29,43, 33,01, 33,79, 34,97, 35,24, 36,43, 36,53, 46,50, 46,79, 60,44, 60,63, 61,24, 61,30, 65,83, 66,90, 66,97, 67,08, 125,77, 125,91, 128,26, 128,33, 128,49, 128,65, 141,64, 141,97, 170,78, 171,01, 173,74, 174,39, 208,42, 209,31.

ESI-MS: m/z 429 (M+H)⁺.

Анал. (C₂₅H₃₆N₂O₄·0,1H₂O): вычислено C: 69,77, H: 8,48, N: 6,51; найдено C: 69,62, H: 8,48, N: 6,73.

Пример 13.

Бензилкарбамоил-5(R)-трет-бутил-L-пролилпирролидин.

Бензилизотиоцианат (0,55 мл, 4,5 ммоль) добавляли к раствору трифторуксусной кислоты соли метилового эфира 5(R)-трет-бутил-L-пролина (полученной из метилового эфира Вос-5(R)-трет-бутил-L-пролина (1,46 г, 4,5 ммоль) по методике E) и триэтиламина (1,9 мл, 13,5 ммоль) в диметилформамиде при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Диметилформамидный раствор выливали в смесь льда с водой и продукт экстрагировали дихлорметаном. Дихлорметановый слой промывали 30% лимонной кислотой, насыщенным раствором NaCl и насыщенным раствором NaHCO₃. Дихлорметановый раствор сушили и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 1,24 г (3,5 ммоль).

¹³C ЯМР: δ 23,90, 26,34, 26,84, 27,54, 29,32, 36,46, 44,96, 46,16, 46,33, 62,56, 66,51, 127,07, 127,41, 128,54, 139,56, 160,29, 171,54.

Анал. (C₂₁H₃₁N₃O₂): вычислено C: 70,55, H: 8,74, N: 11,75; найдено C: 70,72, H: 8,85, N: 12,08.

Пример 14.

Этиловый эфир Вос-5(S)-метил-L-пролина.

Получен согласно Collado, I. et al. (J. Org. Chem. 1995, 60, 5011-5015). Очищали без разделения диастереомеров методом флэш-хроматографии. Эта методика дает (2S,5S) диастереомер в качестве основного продукта.

Этиловый эфир 4-фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролина.

4-Фенилбутаноилхлорид (полученный из 4-фенилбутановой кислоты (1,42 г, 8,6 ммоль) и тионилхлорида (0,93 мл, 13,0 ммоль)) добавляли к раствору трифторуксусной кислоты соли этилового эфира 5(S)-метил-L-пролина (полученной из этилового эфира Вос-5(S)-метил-L-пролина (1,85 г, 7,2 ммоль) по методике E) и триэтиламина (4,0 мл, 28,7 ммоль) в дихлорметане при 0°C. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 3 ч. Дихлорметановый слой промывали 30% лимонной кислотой, насыщенным раствором NaCl и насыщенным раствором NaHCO₃. Дихлорметановый раствор сушили и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 1,56 г (5,1 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролин.

Этильную сложноэфирную группу этилового эфира 4-фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролина (1,54 г, 5,1 ммоль) гидролизовали по методике D. Выход 1,36 г (4,9 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролилпирролидин.

4-Фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролин (0,67 г, 2,4 ммоль) и пирролидин (0,20 мл, 2,4 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,64 г (2,0 ммоль).

¹³C ЯМР: δ 21,72, 24,15, 26,25, 26,51, 26,54, 31,72, 32,99, 35,11, 45,87, 46,22, 53,72, 58,06, 125,76, 128,26, 128,64, 141,95, 170,53, 171,70.

Анал. (C₂₀H₂₈N₂O₂·0,2H₂O): вычислено C: 72,34, H: 8,62, N: 8,44; найдено C: 72,08, H: 8,86, N: 8,55.

Пример 15.

4-Фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролил-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидин.

Получен по методике C с использованием 4-фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролина (0,69 г, 2,5 ммоль) и трифторуксусной кислоты соли 2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (полученной из Вос-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (0,68 г, 2,5 ммоль) по методике E). Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,26 г (0,61 ммоль).

4-Фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролил-2(S)-(гидроксиацетил)пирролидин.

Получен по методике F с использованием 4-фенилбутаноил-5(S)-метил-L-пролил-2(S)-(ацетоксиацетил)пирролидина (0,26 г, 0,61 ммоль) в качестве исходного вещества. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,15 г (0,38 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 21,58, 25,34, 26,12, 26,44, 28,19, 31,60, 32,95, 35,14, 46,99, 53,81, 57,69, 60,94, 67,06, 125,83, 128,29, 128,55, 141,79, 171,01, 171,79, 209,19.

ESI-MS: m/z 387 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Анал. ($\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0,4\text{H}_2\text{O}$): вычислено С: 67,12, Н: 7,89, N: 7,12; найдено С: 67,19, Н: 7,88, N: 6,95.

Пример 16.

Этиловый эфир Вос-5(S)-трет-бутил-L-пролина.

Раствор $\text{CuBr} \cdot \text{Me}_2\text{S}$ (4,11 г, 20 ммоль) в безводном тетрагидрофуране (40 мл) охлаждали до -80°C и добавляли 1,5М трет-буллилитий (13,3 мл, 20 ммоль). Через 30 мин добавляли $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ (2,5 мл, 20 ммоль) и еще через 20 мин добавляли раствор этилового эфира Вос-5-метокси-L-пролина (1,28 г, 4,7 ммоль) (полученного согласно Collado, I. et al. (J. Org. Chem. 1995, 60, 5011-5015)) в безводном тетрагидрофуране (10 мл). Реакционную смесь перемешивали 15 мин при -80°C , после чего ей давали нагреться до комнатной температуры в течение 3 ч. Добавляли смесь 25% NH_3 (12 мл) и насыщенный раствор NH_4Cl (12 мл) и реакционную смесь перемешивали 1 ч при комнатной температуре. Тетрагидрофурановый слой отделяли и упаривали. Остаток растворяли в диэтиловом эфире. Оставшийся водный слой экстрагировали диэтиловым эфиром. Эфирные слои объединяли и промывали насыщенным раствором NaHCO_3 , сушили и упаривали. Очищали методом флэш-хроматографии без разделения диастереомеров, выход 1,27 г (4,2 ммоль). Эта методика дает (2S,5S)-диастереомер в качестве основного продукта.

Вос-5(S)-трет-бутил-L-пролин.

Этильную сложноэфирную группу этилового эфира Вос-5(S)-трет-бутил-L-пролина (1,23 г, 4,1 ммоль) гидролизovali по методике D в течение продолжительного времени реакции. Выход 0,62 г (2,3 ммоль).

Вос-5(S)-трет-бутил-L-пролилпирролидин.

Вос-5(S)-трет-бутил-L-пролин (0,62 г, 2,3 ммоль) и пирролидин (0,19 мл, 2,3 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,43 г (1,3 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 24,19, 25,03, 26,33, 27,52, 28,24, 29,66, 36,89, 45,91, 46,06, 60,18, 66,25, 79,01, 155,79, 172,02.

ESI-MS: m/z 325 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Анал. ($\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$): вычислено С: 66,63, Н: 9,94, N: 8,63; найдено С: 66,77, Н: 10,30, N: 8,75.

Пример 17.

Пирролидинамид (\pm)-2-формилциклопент-2-еновой кислоты.

2-Формилциклопент-2-еновую кислоту (0,50 г, 3,6 ммоль) и пирролидин (0,30 мл, 3,6 ммоль) вводили в реакцию сочетания по методике C. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,50 г (2,6 ммоль).

Пирролидинамид 2-(гидроксипиридин-3-илметил)циклопент-2-еновой кислоты.

К раствору 3-иодпиридина (0,29 г, 1,4 ммоль) в 10 мл безводного ТГФ добавляли 1М раствор этилмагнийбромида в ТГФ (1,7 мл, 1,7 ммоль) при комнатной температуре. Через 30 мин добавляли пирролидинамид (\pm)-2-формилциклопент-2-еновой кислоты (0,25 г, 1,3 ммоль) в безводном ТГФ и смесь перемешивали в течение 4 ч. Реакционную смесь выливали в холодный насыщенный раствор NH_4Cl , раствор подкисляли соляной кислотой и промывали дихлорметаном. Очищали методом флэш-хроматографии, выход 0,17 г (0,62 ммоль).

Пирролидинамид 2-никотиноилциклопент-2-еновой кислоты.

Пирролидинамид 2-(гидроксипиридин-3-илметил)циклопент-2-еновой кислоты (0,17 г, 0,62 ммоль) окисляли по методике B при -20°C . Реакционную смесь промывали 5% NaOH . Очищали методом флэш-хроматографии, выход 55 мг (0,20 ммоль).

^{13}C ЯМР: δ 24,42, 26,16, 27,77, 33,95, 45,86, 46,90, 49,41, 123,21, 133,96, 136,61, 144,16, 148,14, 150,14, 152,56, 172,49, 191,93.

ESI-MS: m/z 271 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

Анал. ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot 0,6\text{H}_2\text{O}$): вычислено С: 68,36, Н: 6,88, N: 9,96; найдено С: 68,70, Н: 6,90, N: 9,60.

Определение ингибирующего эффекта новых соединений на активность пролилолигопептидазы из мозга свиньи

Ингибирующий эффект новых соединений на активность POP мозга свиньи определяли способом, описанным на методике, описанной Toide et al. (Toide, K., Iwamoto, Y., Fujiwara, T., Abe, H., J. Pharmacol. Exptl. Ther., 1995, 274, 1370-1378) для ферментов крыс.

Целый мозг свиньи, за исключением мозжечка и большей части ствола, от трех свиней помещали в жидкий азот не позже чем через 30 мин после забоя и выдерживали при -80°C до гомогенизации. Мозги гомогенизировали с помощью стеклянного-тефлонового гомогенизатора в 3 объемах охлаждаемого льдом 0,1М натрий-калиевого фосфатного буфера (рН 7,0) и гомогенизаты центрифугировали в течение 20 мин при 4°C и 10000g. Верхние слои отбирали, объединяли и хранили до использования в виде малых аликвот при -80°C . Верхний слой оттаивали во льду непосредственно перед испытанием активности и разбавляли в отношении 1:2 гомогенизирующим буфером (=ферментный препарат).

В методике опытов с использованием микропланшета 10 мкл ферментного препарата преинкубировали с 460 мкл 0,1М натрий-калиевого фосфатного буфера (рН 7,0) и 5 мкл раствора нового соединения, растворенного в ДМСО, и разбавляли 0,1М натрий-калиевым фосфатным буфером при 30°C в течение 30 мин. Контрольные пробы содержали 10 мкл ферментного препарата и 465 мкл 0,1М натрий-калиевого фос-

фатного буфера (рН 7,0). Реакцию инициировали добавлением 25 мкл 4 мМ Suc-Gly-Pro-АМС (АМС=7-амидо-4-метилкумарин), растворенного в 0,1М натрий-калиевом фосфатном буфере (рН 7,0), и смесь инкубировали при 30°C в течение 60 мин. Реакцию заканчивали добавлением 500 мкл 1М натрий-ацетатного буфера (рН 4,2).

Образование 7-амидо-4-метилкумарина определяли флуорометрически с помощью флуоресцентного детектора (возбуждение при 360 нм и эмиссия при 460 нм). Конечная концентрация новых соединений в опытной смеси находилась в пределах от 10^{-12} М до 10^{-4} М.

Активность пролилолигопептидазы рассчитывали по следующей формуле в присутствии различных концентраций новых соединений. Для оценки ингибирующего потенциала нового соединения строили график зависимости активности (% от контрольного опыта) от логарифма концентрации соединения и значение IC_{50} определяли с помощью нелинейной регрессии с использованием программы GraphPadPrism.

Активность (% от контрольного опыта) = $a/b \times 100$, где

a = интенсивность флуоресценции в присутствии нового соединения;

b = интенсивность флуоресценции в отсутствие нового соединения (контроль).

Ингибирование пролилолигопептидазы мозга свиньи

Соединение из примера №	IC_{50} [нМ]
1	0,38
2	0,32
3	9
4	7,7
5	0,21
6	1,3
7	0,71
8	0,15
9	2,2
11	1,6
12	0,24
14	1,4
15	0,17
16	9,2

Новые соединения проявляют высокий ингибирующий потенциал по отношению к пролилолигопептидазе мозга свиньи. Результаты суммированы в таблице.

Ингибирующая активность по отношению к другим пролин-специфическим протеазам

Новые соединения были протестированы на специфичность ингибирующей активности по отношению к образованию 7-амидо-4-метилкумарина из специфических субстратов других специфических пролинопептидаз из мозга свиньи.

Определение ингибирующего эффекта новых соединений по отношению к активности дипептидилпептидазы II мозга свиньи

Следуя методике определения ингибирующего эффекта новых соединений по отношению к пролилолигопептидазе, но инициируя реакцию добавлением 25 мкл 0,4 мМ H-Lys-Ala-АМС, растворенного в 0,1М натрий-калиевом фосфатном буфере (рН 7,0), и инкубируя смесь при 30°C в течение 30 мин, определяли образование 7-амидо-4-метилкумарина. Ингибирование дипептидилпептидазы II рассчитывали по следующей формуле в присутствии нового соединения (10^{-6} М).

Процент ингибирования (%) = $(1-c/d) \times 100$, где

c = интенсивность флуоресценции в присутствии нового соединения;

d = интенсивность флуоресценции в отсутствие нового соединения (контрольный опыт).

Новые соединения не проявили ингибирующего эффекта по отношению к дипептидилпептидазе II из мозга свиньи.

Определение ингибирующего эффекта новых соединений по отношению к активности дипептидилпептидазы IV мозга свиньи

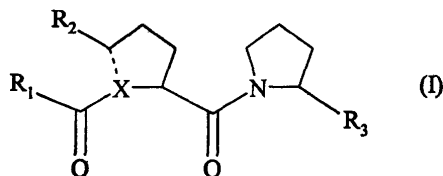
Следуя методике определения ингибирующего эффекта новых соединений по отношению к пролилолигопептидазе, но инициируя реакцию добавлением 25 мкл 2 мМ H-Gly-Pro-АМС, растворенного в

0,1M натрий-калиевом фосфатном буфере (pH 7,0), определяли образование 7-амидо-4-метилкумарина. Ингибирование дипептидилпептидазы IV рассчитывали по вышеуказанной формуле в присутствии нового соединения (10^{-6} M).

Новые соединения не проявили ингибирующего эффекта по отношению к дипептидилпептидазе IV из мозга свиньи.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы (I)



причем в формуле X представляет собой C;

пунктирная линия представляет собой двойную связь;

R₁ представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-5 атомов углерода, незамещенную или содержащую 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой гидрокси, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, amino, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное карбоциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное гетероциклическое кольцо, незамещенное или содержащее 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы,

замещенную или незамещенную алкильную или алкенильную группу, как определено выше, включенную в качестве группового члена в замещенное или незамещенное карбоциклическое кольцо или гетероциклическое кольцо, как определено выше,

гидрокси, низший алкокси, арилокси, арил(низший)алкокси, amino, amino(низший)алкил, низший алкиламино, ариламино или арил(низший)алкиламиногруппы, причем указанные алкил, арил или аминоподгруппы являются незамещенными или содержащими 1-3 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой низший алкил или группу, как описано выше для алкильной группы;

R₂ представляет собой H;

R₃ представляет собой H, циано или COR⁴, причем R⁴ представляет собой H, низший алкил, циклоалкил, циклоалкенил, гетероцикл или арил, причем указанный низший алкил является незамещенным или содержащим 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой гидрокси, оксо, галоген, низший алкокси, арил, арилокси, арил(низший)алкокси, циклоалкил или гетероцикл; или его фармацевтически приемлемые соли или эфиры.

2. Соединение по п.1, в котором

R₁ представляет собой

прямую или разветвленную алкильную цепь, содержащую 1-3 атома углерода, незамещенную или содержащую 1-2 заместителя, каждый из которых независимо представляет собой арил, арилокси, арил(низший)алкокси, низший алкиламино, ариламино, арил(низший)алкиламино, циклоалкил или гетероцикл,

3-7-членное, насыщенное или ненасыщенное, незамещенное гетероциклическое кольцо, низший алкокси, amino(низший)алкил, низший алкиламино, ариламино или арил(низший)алкиламино, причем аминоподгруппы являются незамещенными или замещены низшим алкилом;

R₃ представляет собой

H, циано или COR⁴, причем R⁴ представляет собой H или низший алкил, причем указанный низший алкил является незамещенным или замещен гидроксильной группой.

3. Фармацевтическая композиция, содержащая по меньшей мере одно соединение формулы (I) по п.1 или 2 и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель и/или эксципиент.

4. Применение соединения формулы (I) по п.1 или 2 для использования в качестве ингибитора пролилполипептидазы.

5. Применение соединения формулы (I) или его фармацевтически приемлемого сложного эфира или соли по п.1 или 2 для производства лекарства, используемого в качестве ингибитора пролилполипептидазы.

6. Применение соединения формулы (I) по п.1 или 2 для производства лекарства для лечения нейродегенеративных заболеваний и/или для улучшения способности к обучению и памяти.

7. Применение по п.6, при котором нейродегенеративным заболеванием является болезнь Альцгеймера или старческое слабоумие.

8. Способ лечения заболевания или улучшения состояния, при которых показаны ингибиторы пролилוליгопептидазы, который включает введение пациенту, нуждающемуся в лечении, эффективного количества по меньшей мере одного соединения формулы (I) по п.1.

9. Способ по п.8, который включает лечение нейродегенеративного заболевания и/или улучшение способности к обучению и памяти.

10. Способ по п.9, при котором нейродегенеративным заболеванием является болезнь Альцгеймера или старческое слабоумие.

